

**Affinity carrier for fractionation of bio-polymers -
comprises polyamide grafted with vinyl monomer
carrying coupling side gps. and monomer with non-
coupling gps.**

Publication number: DE4129901

Publication date: 1993-03-11

Inventor: MUELLER-SCHULTE DETLEF DR
(DE)

Applicant: MUELLER SCHULTE DETLEF DR
(DE)

Classification:

- **international:** B01D15/08; B01J20/32;
C07K1/22; C07K14/62; C08F2/06;
C08F283/04; B01D15/08;
B01J20/30; C07K1/00;
C07K14/435; C08F2/04;
C08F283/00; (IPC1-7): B01D15/08;
B01D67/00; B01D71/00;
C07K3/20; C07K17/08; C08F2/06;
C08F283/04; C12N11/08

- **european:** B01D15/08; B01J20/32; C07K1/22;
C07K14/62; C08F283/04

Application number: DE19914129901 19910909

Priority number(s): DE19914129901 19910909

[Report a data error here](#)

Abstract of DE4129901

In an affinity carrier based on polyamides onto which polymers have been grafted, the grafted polymers are (a) 70-98% from vinyl monomers with functional side-gps. capable of coupling of formula CH₂=CR₁-COX and (b) 30-2% of co-monomers with non-coupling gps. R₁ is H or Me, X is OH- O(CH₂)₂-6-OH, -NHOH, gp. (i). Pref. comonomers are N-vinylpyrrolidone, (meth)acrylamide, maleic anhydride and/or allyl urea, esp. 0.05-5% of vinyl monomer with at least 2 reactive vinyl functions or may be acrolein. The graft copolymer may contain an amino gp. formed

by reaction of a graft copolymer contg. an oxirane gp. with a diamine.
USE/ADVANTAGE - The affinity carrier is used in fractionation of biopolymers (claimed) by affinity and immuno-affinity chromatography and in immobilisation of bio-molecules. Ligands in the form of peptides, proteins, enzymes, antibodies, blood factors, nucleotides, nucleic acids, glycoproteins and oligosaccharides can be covalently bonded onto the matrix. The carrier is mechanically stable.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide



(19) BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

(12) Offenlegungsschrift
(10) DE 41 29 901 A 1

(51) Int. Cl. 5:
B 01 D 15/08

B 01 D 67/00
B 01 D 71/00
C 08 F 283/04
C 08 F 2/06
C 07 K 17/08
C 07 K 3/20
C 12 N 11/08

(21) Anmelder:
Müller-Schulte, Detlef, Dr., 5100 Aachen, DE

(22) Erfinder:
gleich Anmelder

(54) Gepropftes Polyamid für die Affinitäts-Chromatographie und Immobilisierung von Bioliganden - Verfahren
zu ihrer Herstellung und Verwendung

(57) Die Erfindung betrifft polymere Träger auf der Basis von Polyamiden, auf die mit Hilfe der strahleninduzierten Propfung simultan Monomere und Comonomere aus einer Lösungsmittelmischung so aufgepropft werden, daß Bioliganden kovalent gebunden werden können, sowie die Verwendung dieser Medien in der Affinitäts-Chromatographie.

DE 41 29 901 A 1

DE 41 29 901 A 1

Beschreibung

Gegenstand der Erfindung sind Polymere aus Polyamid, auf die Polymere mit Oxiran-, Hydroxyl-, Isocyanat-, Carboxyl- oder Aldehydgruppen aufgepropft und zur kovalenten Bindung von Affinitäts-Liganden oder Biomolekülen befähigt sind. Ferner betrifft die vorliegende Erfindung Verfahren zur Herstellung von Trägern für die Affinitäts-Chromatographie sowie für die Biomolekül-Immobilisierung auf der Basis von Polyamiden durch Aufpropfen von hydroxyl-, carboxyl-, isocyanat-, oxiran- oder aldehydgruppenhaltigen Vinylmonomeren unter Verwendung von Gamma-Strahlen oder ionisierenden Strahlen entweder direkt oder mittels der Vorbestrahlungstechnik. Gegenstand der Erfindung ist ferner die Verwendung der gekoppelten Träger zur Trennung von Biomolekülen. Durch die Einführung obiger Monomere in das Basispolymer wird dieses so funktionalisiert, daß es möglich wird, Liganden in Form von Peptiden, Proteinen, Enzymen, Antikörpern, Nukleotiden, Oligosacchariden an die strahlmodifizierte Matrix kovalent zu binden und dadurch die Träger zur affinitätschromatographischen Auf trennung von biologisch-biochemischen Lösungen zu benutzen.

Die heutzutage gebräuchlichen Träger für die Affinitäts-Chromatographie bestehen vorwiegend aus modifizierten Dextranen, Agarose, Polyacrylamid/Agarose, Komposit-Trägern oder anorganischen Trägern auf der Basis von Silikaten. Die Ligandenbindungs kapazität und damit die Leistungsfähigkeit dieser organischen Medien wird in erster Linie durch den Vernetzungsgrad (crosslinking) bestimmt, durch den die Matrix eine bestimmte Quellfähigkeit und damit Porosität erhält. Die Fähigkeit des Gels mehr oder weniger zu quellen stellt demnach ein direktes Maß für die Beladungsdichte der Liganden dar. Dieser Sachverhalt bedingt jedoch einen entscheidenden Nachteil insofern, als die Porosität direkt mit der mechanischen Stabilität der Gele zusammenhängt. Je poröser ein Träger ist, desto mechanisch instabiler wird er. Dies bedeutet, daß bei hohen Flußraten, die man heute in der Chromatographie anstrebt, das Gel komprimiert wird und durch den entstehenden Gegendruck die Auftrennschärfe praktisch verloren geht. Um diesen offensichtlichen Nachteil der "soft" Gele zu umgehen, geht der Trend in den letzten Jahren dahin, die Gele höher zu vernetzen und gleichzeitig, um die damit einhergehende Kapazitätsverringerung zu kom pensieren, die Teilchengrößen (Beadgrößen) zu verkleinern. Die heute gebräuchlichsten Beadgrößen für die "Fast-Flow" Chromatographie liegen im Bereich von 10 bis 50 µm. Anorganische Träger auf der Basis von Silikaten oder porösen Gläsern stellen demgegenüber äußerst rigide Materialien dar und können dementsprechend mit hohen Flußraten gefahren werden. Dieser Vorteil relativiert sich jedoch insofern, als aufgrund der geringen Bindungskapazitäten Träger mit sehr geringer Teilchengröße – teilweise unter 5 µm – verwendet werden und bei solchen Teilchengrößen bereits enorme Pumpleistungen erforderlich sind, um einen akzeptablen Fluß zu erreichen. Ein weiterer Grund, weshalb Silikate kaum Eingang in den Bereich der Proteinauf trennung gefunden haben, liegt in der chemischen Struktur dieser Träger begründet. Infolge der vorhandenen Silanolgruppen neigen die Silikate sehr stark zur unspezifischen Protein-Adsorption, ein Nachteil, den man häufig durch Beschichten (coaten) mit hydrophilen Polymeren zu umgehen versucht hat.

Synthetische organische Copolymeren auf der Basis

von Acrylaten sind in DE 22 37 316 beschrieben. Die mechanische Stabilität dieser Medien liegt zwischen der Soft-Gele und der anorganischer Träger. Einschränkungen hinsichtlich der Gebrauchsfähigkeit dieses Trägers müssen auch hier wegen der Neigung zur unspezifischen Adsorption aufgrund partiell hydrophober Eigenschaften gemacht werden.

Eine interessante Alternative zu den herkömmlichen Trägern stellen Medien dar, die durch Ppropfung von Vinylmonomeren auf polymere Substrate gewonnen werden. Die Modifikationsbreite dieser Technik ist praktisch unbegrenzt, da unter Zuhilfenahme ionisierender Strahlung, vorzugsweise Gamma-Strahlen, eine Vielzahl von Monomeren auf nahezu sämtliche bekannte Polymersubstrate gepropft werden können. Diese Technik ist in der Vergangenheit genutzt worden, um u. a. auch neue Träger für die Immobilisierung von Enzymen zu synthetisieren. So beschreiben Beddows et al. Verfahren zur Ppropfung von Hydroxyäthyl-methacrylat auf Polyäthylen (J. Appl. Polymer Sci, 35, 1980, 135) sowie Ppropfungen auf Naturgummi (Radiat. Phys. Chem. 36, 1990, 703). Die Nachteile dieser Verfahren und Produkte sind einerseits der Gebrauch von Polyäthylen und Gummi als Substrate, die aufgrund ihrer hydrophoben Eigenschaften äußerst ungünstige Substrate für eine Immobilisierung darstellen, andererseits sind die beschriebenen Verfahren umständlich, da das gepropfte Hydroxyäthyl-methacrylat für die anschließende Kopplung erst zu einer Carboxyl-Funktion hydrolysiert werden muß. Die Nachteile von Verfahren und Produkten dokumentieren sich entsprechend in niedrigen Enzym-Aktivitätsraten.

Eine weitere Strahlenppropfung ist in der US-Patentschrift 33 22 661 beschrieben. Auch hier werden Polyolefine als Substrate verwendet, die, um eine Ppropfung zu ermöglichen, im ersten Schritt peroxidiert werden müssen. Die dort beschriebenen Produkte sind aufgrund der verwendeten Substrate und Monomere völlig ungeeignet für die Immobilisierung irgendwelcher Liganden oder Biomoleküle. K. C. Hou beschreibt im US-Patent 46 63 163 die Synthese von Ionenaustauschergelen durch kovalente Bindung synthetischer Polymere auf Zellulosederivate. Die beschriebenen Verfahren sind recht aufwendig, so werden zur Darstellung bestimmter Ionenaustauscher bis zu acht Einzelschritte unter Anwendung hoher Reaktionstemperaturen (80–90°C) benötigt. Die bei den Soft-Gele beschriebenen mechanischen Instabilitäten werden auch bei diesem Verfahren nicht beseitigt, da die verwendete Zellulose auch zur Kategorie der Soft-Gele gehört. Die Möglichkeiten der Bindung von Affinitätsliganden sind darüber hinaus bei diesem Verfahren nicht gegeben.

Die Herstellung von Polyurethan-Elastomeren durch Ppropfung von Acrylaten auf Polybutadien und anschließende Umsetzung mit polyfunktionellen Isocyanaten zur Verbesserung der Dehn eigenschaften sind im US-Patent 42 02 950 beschrieben. Das vorliegende Verfahren ist sehr aufwendig und benötigt mehrere Einzelreaktionen. Die Praktikabilität des Verfahrens wird ferner durch Verwendung sehr bedenklicher Lösungsmittel wie Benzol drastisch eingeschränkt. Die Verwendung der Produkte bleibt auf den reinen Textilektor beschränkt.

In der DE-OS 38 11 042 wird die Ppropfung von Vinylmonomeren auf hydroxylgruppenhaltige Substrate zur Herstellung von Ionenaustauschern beschrieben. Das Verfahren bedient sich zur Ppropfinitiierung Cer(IV)-Salze. Diese Ppropftechnologie ist auf hydroxyl-

gruppenhaltige Substrate beschränkt und beschreibt lediglich die Herstellung von Ionenaustauschern. Die Variationsbreite, so wie sie durch die Strahlenpropfung gegeben ist, bietet diese Technik nicht. Im Kanadischen Patent 12 23 859 wird die Strahlenpropfung auf verschiedene Polymersubstrate beschrieben, die als Träger für die Affinitäts-Chromatographie und Biomolekül-Immobilisierung geeignet sind. Die Kopplung der Biomoleküle und der mit hydroxyl-, carboxyl- oder amidgruppenhaltigen Monomeren gepropften Träger wird mit den bekannten Kopplungsagenten BrCN, Dicyclohexylcarbodiimid und Glutaraldehyd bewerkstelligt. Die Kopplungen mittels BrCN erfordern aufwendige Sicherheitsmaßnahmen und führen ferner zu Verknüpfungen, die hydrolyseanfällig sind (J. Lasch und R. Kölsch, Eur. J. Biochem., 82, 1978, 101). Das gleiche Problem resultiert aus den Glutaraldehyd-Verknüpfungen. Beide Verfahren sind daher ungeeignet für die Kopplung hochwirksamer Protein-Liganden, so wie sie beispielsweise in Form von Antikörpern für die Immunaffinitäts-Chromatographie erforderlich sind.

Die Verwendung von Lösungsmitteln, die, wie in der vorliegenden Erfindung noch zu zeigen ist, einen essentiellen Einfluß auf den gesamten Ppropfprozeß hat, bleibt bei diesem Verfahren auf die Verwendung von Aceton, Wasser und Äthanol beschränkt, ohne irgendeinen funktionellen Zusammenhang zwischen der Verwendung der Lösungsmittel, der verschiedenen Substrate und dem Ppropfverfahren herzustellen. Dadurch, und aufgrund des Umstandes, daß bei allen früheren Ppropfverfahren lediglich nur eine Vinylmonomerkomponente verwendet wird, werden für eine ausreichende Ppropfung > 10 Gew.-% hohe Strahlendosen von 1 bis 10 Mrad notwendig. Diese hohen Dosen führen jedoch dazu, daß das Substrat durch den strahlenbedingten Abbau nachhaltig geschädigt wird, d. h., durch die Fragmentierung der Molekülketten wird die Festigkeit des Substrates beeinträchtigt.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind somit Trägermedien mit geeigneter mechanischer Stabilität, auf die mittels strahlungsinduzierter Ppropfung Vinylmonomere entsprechender Funktionalität so aufgebracht werden, daß Affinitäts-Liganden und Biomoleküle in effizienter Weise und hoher Ausbeute an die Matrix gekoppelt werden können. Darüber hinaus wird in dem erfindungsgemäßen Verfahren gezeigt, wie durch gezielte Auswahl von Monomeren und Comonomeren, die in einer speziellen Lösungsmittelmischung gelöst sind und simultan gepropft werden, der Ppropfprozeß gegenüber bekannten Verfahren einerseits deutlich verbessert wird und dem so erzeugten Produkt andererseits überraschend neue produktive Eigenschaften verliehen werden können. Die Auswahlkriterien für Polyamide als Ppropfmatrix sind zum einen die gute mechanische, chemische und biologische Stabilität, zum anderen sind die Polyamide unter allen herkömmlichen Kunststoffen die Materialien mit den ausgeprägtesten hydrophilen Eigenschaften. Dieser Parameter ist von entscheidender Bedeutung, da bei der Affinitäts-Chromatographie unspezifische Adsorptionen unbedingt minimal sein müssen. Für die Ppropfung lassen sich prinzipiell sämtliche Polyamid-Typen, vorzugsweise jedoch Polyamid 6 und 66, verwenden.

Neben den erwähnten Eigenschaften kann überraschenderweise die Glastemperatur der Polyamide, die zwischen 50 und 75°C liegt, und sich grundsätzlich von der der Polyolefine und anderer Polymere unterscheidet, dazu genutzt werden, das Ppropfverfahren zu optimieren und das gepropfte Produkt entsprechend den Anforderungen für die Immobilisierung zu verbessern.

Polyamid, so wie es bei früheren Ppropfungen verwendet wurde, sowie die anderen erwähnten Ppropfsubstrate weisen in der Regel eine hohe Kristallinität — bis zu 80% — auf. Nun ist bekannt, daß die Ppropfung praktisch ausschließlich in den amorphen Bereichen der Polymersubstrate stattfindet und erst mit zunehmender Ppropfung die kristallinen Bereiche auf Kosten der amorphen abgebaut werden. Die Verwendung amorpher Substrate hat jedoch gegenüber den partiell kristallinen Polymeren den Vorteil, daß die Diffusion der Monomeren, die der geschwindigkeitsbestimmende Schritt bei allen Ppropfprozessen ist, durch die Beseitigung der kristallinen Bereiche und die dadurch bedingte Strukturauflockerung drastisch beschleunigt wird. Parallel mit der Strukturauflockerung geht auch die Zunahme der Porosität, so daß hierdurch überraschenderweise ein synergetischer Effekt erzielt wird dergestalt, daß sowohl der Ppropfprozeß als auch die Bindungskapazität des Trägers im Sinne des oben dargelegten Zusammenhangs zwischen Porosität und Liganden-Bindungskapazität positiv beeinflußt wird.

Da die Glastemperaturen der Polyamide deutlich oberhalb der Raumtemperatur (50—75°C) liegen, ist es im Gegensatz zu den früher benutzten Polymersubstraten wie PVC, Polyvinylidenfluorid, Polystyrol, PTFE etc. möglich, durch einfaches Aufschmelzen des Polyamides und anschließendes Abkühlen ein vollständig amorphes Produkt zu erhalten. Die Herstellung der amorphen Polyamide geschieht üblicherweise durch Aufheizen des Polymeren oberhalb des Schmelzpunktes, vorzugsweise in einer hochsiedenden, inerten Flüssigkeit, und sofortiges Abkühlen in Eiswasser oder einer Trockeneismischung. Als Aufschmelzmedien haben sich hochsiedende Flüssigkeiten wie Paraffinöl, Silikonöl oder Glycerin bewährt. Beim Abkühlvorgang muß gewährleistet sein, daß die Abkühlgeschwindigkeit sehr viel größer ist als die Rekristallisationsgeschwindigkeit, um so den amorphen Zustand quasi einzufrieren. Neben der Verfahrens- und Produktverbesserung im Hinblick auf erhöhte Porosität und Ppropfausbeuten durch die Verwendung amorpher Polymere, kann darüber hinaus gezeigt werden, daß die Ppropfung durch die Zugabe von 0,35 bis 8 Vol.-% eines nicht reaktiven Monomeren, d. h. eines Monomeren mit nicht kupplungsfähigen Seitengruppen wie z. B. N-Vinylpyrrolidon, Acrylamid, Methacrylamid, Maleinsäureanhydrid, Allylharnstoff (letztere vier Komponenten als 20%ige wäßrige Lösungen) zu der Ppropfmischung, die Ppropfeffizienz gegenüber herkömmlichen Verfahren, die nur eine Monomerkomponente verwenden, um den Faktor 100 gesteigert werden kann. So werden z. B. in der oben zitierten Kanadischen Patentschrift 12 23 859 Hydroxyäthyl-methacrylat mittels einer Strahlendosis von 9 Mrad unter Vakuum gepropft. Das erfindungsgemäße Verfahren benötigt dagegen lediglich Strahlendosen zwischen 0,1 und 0,2 Mrad unter Normalluftbedingungen. Diese Verbesserung der Strahlausbeute wird dadurch ermöglicht, daß durch die Zugabe von nicht reaktiven Comonomeren die Verteilung der Monomeren in der Ppropfphase verbessert wird und so der Ppropfprozeß beschleunigt wird. Bei der Verwendung von nur einer Monomerkomponente kommt es häufig in der Ppropfphase zu einer ungünstigen Verteilung der Vinylmonomeren, woraus erhöhte Homopolymerisation oder Kettenabbruch resultiert.

Während bei herkömmlichen Ppropfverfahren in der

Regel nur eine Vinylkomponente verwendet wird, so bleibt auch die Verwendung von Lösungsmitteln bei den bisherigen Ppropfungen auf einige wenige empirisch ausgesuchte Lösungsmittel beschränkt, wobei in der Regel nur eine Komponente pro Ppropfansatz verwendet wird (A. A. Armstrong und H. A. Rutherford, Text. Res. J. 33, 1963, 264; A. K. Mukherje und B. D. Gupta, J. Appl. Polymer Sci., 30, 1985, 2655; P. L. Nayak et al., Angew. Makromol. Chemie, 161, 1988, 9; Can. Patent 12 23 859).

Lediglich in der CIP-Application, USA, SN 07 150 417 wird erstmals ein funktioneller Zusammenhang zwischen der Verwendung bestimmter Lösungsmittel und dem Polymersubstrat durch die Verwendung des Löslichkeitsparameter-Konzeptes hergestellt. Die Anwendung der Löslichkeitsparameter wird jedoch in der zitierten Arbeit rein qualitativ und empirisch behandelt. Es werden keine Angaben darüber gemacht, welche Löslichkeitsparameterwerte für welches Polymer optimal sind.

In der vorliegenden Arbeit kann nun gezeigt werden, daß durch die Verwendung solcher Lösungsmittel, die einen Löslichkeitsparameter von 9 bis 15 ($\text{cal}/\text{cm}^{-3}\right)^{1/2}$ (Quelle Polymer Handbook, Hrsg. Brandrup, Immert, 3. Auflage, 1989) aufweisen, die Ppropfung gegenüber früheren Verfahren verbessert werden kann. Diese Werte liegen im gleichen Bereich wie die Löslichkeitsparameter für das Ppropfsubstrat Polyamid (13,5 bis 15 ($\text{cal}/\text{cm}^{-3}\right)^{1/2})$. Durch die Ähnlichkeit der energetischen Eigenschaften des Lösungsmittels mit denen des Polymeren wird die Quellung des Polymersubstrates besonders gefördert und die Diffusion der Monomeren in das Substratinnere entsprechend beschleunigt. Lösungsmittel mit den bezeichneten Eigenschaften, die vorzugsweise für die Ppropfung verwendet werden können, sind z. B. Chloroform, Benzylalkohol, Furan, Chlorbenzol, Dioxan, Aceton, Isobutylalkohol, Tetrahydrafuran, Äthylacetat, Dimethylsulfoxid, Dimethylformamid, Methylacetamid, Piperidin, Methanol, Pyrrolidon, Propylalkohol. Diese Lösungsmittel werden in der Regel als binäre, ternäre oder quartärne Mischungen im Ppropfansatz verwendet. Die Mengen der zugesetzten Lösungsmittel beträgt in der Regel zwischen 50 und 80 Vol.-%, vorzugsweise zwischen 65 und 75 Vol.-%, wobei die Konzentrationen der einzelnen Komponenten zwischen 4 und 38 Vol.-% betragen. Eine besonders deutliche Verbesserung des Ppropfprozesses wird jedoch überraschenderweise erst dadurch ermöglicht, daß neben den Lösungsmittel der oben beschriebenen Art zusätzlich solche Lösungsmittel verwendet werden, die über hohe Wasserstoff-Bindungs-Parameter von > 9 ($\text{cal}/\text{cm}^{-3}\right)^{1/2}$ verfügen (Quelle K. L. Hoy, Tables of Solubility Parameters, Union Carbide Corp., South Charleston, USA, 1969) und in der Ppropfmischung in einer Konzentration von 1 bis 10 Vol.-%, vorzugsweise 3 bis 6 Vol.-%, vorliegen. Der überraschende Effekt dieser Lösungsmittel begründet sich daraus, daß die stark ausgeprägten intermolekularen Wasserstoff-Brückenbindungen des Polyamids aufgebrochen werden und durch die Auflockerung der Mikrostruktur die Diffusion der Monomeren begünstigt wird. Erst die Zugabe von Lösungsmitteln mit diesen Wasserstoff-Bindungs-Parametern ermöglicht einen synergetischen Effekt, derart, daß zum einen der Ppropfprozeß deutlich begünstigt wird, zum anderen die Zugänglichkeit des polymeren Trägers für die Bindung der Biogradienten erhöht wird. Die Verwendung dieser Lösungsmittel macht darüber hinaus eine andere Maßnahme überflüssig, die in der CIP-Application SN 07 150 417 beschrieben wird, nämlich die Ver-

wendung von Dialkylaminoäthyl-(meth)acrylaten, die, als Comonomere in das Ppropfcopolymer eingeführt, aufgrund ihrer Ladung zur Auflockerung der Kolloidstruktur des polymeren Trägers beitragen sollen. Dieses Verfahren führt jedoch insofern zu einem sehr nachteiligen Effekt, als infolge der Ladungen das Polymere quasi Ionenaustauscher-ähnliche Eigenschaften erhält mit ausgeprägter Neigung zur Protein-Adsorption. Dieser Effekt ist jedoch bei Affinitätsträgern höchst unerwünscht, da unspezifische Proteinadsorptionen hierbei möglichst minimal sein müssen. Lösungsmittel mit den oben beschriebenen Wasserstoff-Bindungseigenschaften sind z. B. Ameisensäure, Trichloressigsäure, Essigsäure, 1,4-Butandiol, Äthylencyanhydrin, Hydrizin, Monoäthanolamin, 1,3-Propandiol, 1,5-Pentandiol. Zur Verbesserung speziell der mechanischen Eigenschaften der Polymerträger können Di- und Triacrylate wie z. B. Äthylenglykol-dimethacrylat, Triäthylenglykol-dimethacrylat, Trimethylolpropan-triacrylat, N,N'-Methylenbisacrylamid, Äthylenglycol-diacylat simultan mit den bisher beschriebenen Monomeren und Comonomeren gepropft werden. Es kommt dadurch zur Vernetzung der Matrix, die überraschenderweise deutlich zur Verbesserung der Rigidität des Trägers beiträgt. Durch gezielte Wahl der Konzentration der Vernetzer-Monomere werden die sonstigen günstigen Eigenschaften des Trägers im Hinblick auf die Liganden-Bindungskapazität praktisch nicht negativ beeinflußt. Dieser Umstand eröffnet den erfundungsgemäßen Produkten erweiterte Anwendungsmöglichkeiten. In diesem Zusammenhang sei vor allem die technische Chromatographie genannt, die aufgrund der benötigten großen Gelvolumina auf unbedingt mechanisch stabile Medien angewiesen ist. Die erfundungsgemäßen Matrices erfüllen diese Forderungen vollständig.

Außer organischen Lösungsmitteln kann überraschenderweise auch mit wäßrigen Metallsalzlösungen, in denen die Monomeren und Comonomeren gelöst sind, ein ähnlicher synergetischer Ppropfeffekt wie oben erzielt werden. Dieser überraschende Effekt erklärt sich aus der Tatsache, daß Wasser einen sehr hohen H-Bindungs-Parameter aufweist (24 ($\text{cal}/\text{cm}^{-3}\right)^{1/2})$, der somit praktisch analoge Eigenschaften auf die Ppropfung ausübt wie die oben beschriebenen Lösungsmittelgemische. Die Metallsalze werden durchweg als 0,002- bis 0,2molare wäßrige Lösungen eingesetzt. Die Konzentration der Metallsalzlösung in der Ppropfmischung beträgt in der Regel 55 bis 80 Vol.-%. Als Metallsalze kommen z. B. Cu(II)-Salze, Fe(II)- oder Fe(III)-Salze sowie Mohr'sches Salz zur Anwendung. Es ist seit langem bekannt, daß Salze der angegebenen Art vielfach in der Ppropftechnik eingesetzt werden, um Homopolymerisation während des Ppropfvorganges zu unterdrücken. Bei dem erfundungsgemäßen Verfahren wird jedoch gezeigt, daß der synergetische Effekt, den die wäßrige Metallsalzlösung ausübt, überraschenderweise nur in Gegenwart von mindestens einer Comonomerenkomponente, die allgemein 1 bis 12 Vol.-%, vorzugsweise 3 bis 7 Vol.-%, im Ppropfansatz ausmacht, zum Tragen kommt.

Um zu solchen Träger zu gelangen, an die Affinitäts-Liganden oder Biomoleküle in Form von Peptiden, Proteinen, Antikörpern, Enzymen, Oligosacchariden sowie Poly- oder Oligonukleotiden kovalent gebunden werden können, werden bevorzugt hydroxyl-, epoxy-, carboxyl-, isocyanat- oder aldehydgruppenhaltige Monomere wie z. B. 2-Hydroxyäthylmethacrylat, Acrylsäure, Methacrylsäure, 2-Isocyanatoäthyl methacrylat, Acro-

lein, N-Methylolacrylamid, N-Acryloyl-2-amino-2-hydroxymethyl-1,3-propanediol aus den oben beschriebenen Lösungen gepropft. Die hydroxyhaltigen Polymere können nach den bekannten Methoden mittels Trosylchlorid, Tosylchlorid, 2-Fluor-1-methyl-pyridinium-toluol-4-sulfonat, Cyanurchlorid, 1,1'-Carbonyldiimidazol, p-Nitrophenylchlorocarbonat z. B. aktiviert werden. Die carboxylgruppenhaltigen Träger können entsprechend mittels 1-Hydroxy-benzotriazol, N-Hydroxysuccinimid, Dicyclohexylcarbodiimid oder dessen Derivate nach den bekannten Methoden aktiviert und für die Kopplung genutzt werden (Methods in Enzymology, Vol. 135, Part B). Aufgrund der deutlich gesteigerten Ppropfeffizienz des erfundungsgemäßen Verfahrens gegenüber früheren Techniken kann die Konzentration der Monomeren im Ppropfansatz niedrig gehalten werden. Sie liegt in der Regel zwischen 15 und 40 Vol.-%, eine gegenüber den üblicherweise verwendeten Konzentrationen von 50 bis 80 Vol.-% relativ niedriger Wert.

Mit den erfundungsgemäßen Produkten lassen sich praktisch sämtliche heute in der Affinitäts-Chromatographie gebräuchlichen Liganden koppeln. Mit Hilfe der neuen Träger können dementsprechend Biomoleküle wie Antikörper, Enzyme, Blutfaktoren, Nukleinsäuren oder Glycoproteine fraktioniert werden. Der Vorteil der erfundungsgemäßen Träger gegenüber herkömmlichen Medien besteht darin, daß neben der strukturbedingten Kapazitätssteigerung auch gleichzeitig die Konformation hochmolekularer Liganden aufgrund der als Spacer fungierenden gepropften Molekülketten präserviert wird, ein Umstand, der vor allem für die Immunaffinitäts-Chromatographie genutzt werden kann, da in diesem Falle spezifische Antikörper als Affinitäts-Liganden gekoppelt werden. Im folgenden wird die Erfindung anhand einiger Beispiele näher erläutert.

Beispiel 1

10 g Polyamid-6-Pulver mit einer durchschnittlichen Teilchengröße von 100 µm werden in 50 ml Silikonöl suspendiert und auf 230°C aufgeheizt und bei dieser Temperatur 1 Min. belassen. Danach wird die Suspension in eine Aceton-Trockeneis-Mischung rasch eingetragen. Das gewonnene amorphe Produkt wird abfiltriert, mit Aceton und Methanol nachgewaschen und im Öl-pumpen-Vakuum getrocknet. 1 g dieses Produktes wird mit 2,5 ml 2-Hydroxyäthylmethacrylat, 0,1 ml 20%iger Methacrylamid Lösung und 5 ml einer 0,005molaren Mohrsalz-Lösung versetzt und anschließend in einer Gamma-Strahlquelle mit 0,15 Mrad bestrahlt. Die Dosis beträgt 0,05 Mrad/Stdn. Das gepropfte Material wird anschließend abgesaugt und mehrfach mit Methanol und Dimethylformamid nachgewaschen, bis das Filtrat frei von jeglichen Reaktionsprodukten ist. Das Produkt wird im Vakuum getrocknet. Es resultiert eine Ppropfausbeute von 95 Gew.-%. 0,5 g des Ppropfcopolymeren werden mit 5 ml 1 N NaOH und 3 ml Epichlorhydrin versetzt und unter ständigem Rühren für zwei Stdn. bei 55°C umgesetzt. Das aktivierte Polymer enthält gemäß Titration mit Na₂S₂O₃ (L. Sundberg und J. Porath. J. Chromatogr. 90, 1974, 89) 850 µMol/g Oxirangruppen. 5 mg Streptavidin, gelöst in 5 ml 1 N K-Phosphat-Puffer, werden mit dem aktivierte Träger für 24 Stdn. bei Raumtemperatur inkubiert. Das mehrfach abwechselnd mit 0,5 N K-Phosphat-Puffer/0,1% Tween, pH 7,5, und PBS-Puffer, pH 7,2, gewaschene Produkt wird anschließend mit 5 mg biotinyliertem Schaf-Antikörper, gelöst

in 2 ml PBS-Puffer, für 10 Minuten inkubiert. Der gesamte Antikörper wird dabei von dem Harz gebunden.

Beispiel 2

5 1 g amorphes Polyamid-Pulver, gemäß Beispiel 1, wird mit 2 ml Glycidyl-methacrylat, 0,2 ml N-Vinylpyrrolidon, 0,08 ml Äthenglykol-dimethacrylat, 0,5 ml Dimethylformamid, 4 ml Athylacetat und 4 ml Methanol versetzt und 2 Stdn. mit einer Strahlendosis von 0,06 Mrad/Stdn. bestrahlt. Das Reaktionsprodukt wird analog Beispiel 1 gewaschen und getrocknet. Die Ppropfausbeute beträgt 111 Gew.-%. An diesen Träger können Liganden mit Mercaptyl-, Carboxyl-, Hydroxyl- und Aminogruppen nach den bekannten Verfahren direkt gekoppelt werden.

Beispiel 3

20 0,5 g gepropfter Träger, gemäß Beispiel 2, wird mit 5 ml 1 M Hexamethylenediamin Lösung, pH 12,0, 12 Stdn. bei 40°C umgesetzt. Das Reaktionsprodukt wird abgesaugt und mehrfach mit Wasser nachgewaschen. 5 ml 0,1 M Na-Phosphat-Puffer-Lösung, pH 7,2, die 10% Glutaraldehyd enthält, werden sodann für 4 Stdn. bei 30°C mit dem Träger inkubiert. Das gewonnene Produkt wird abgesaugt und mit Wasser und Na-Phosphat-Puffer nachgewaschen, bis das Filtrat frei von Aldehyd ist. 4 ml 0,025 M NaCNBH₃ enthaltender PBS-Puffer, pH 7,2, in dem 7,5 mg anti-HGH IgG gelöst sind, wird für 10 Stdn. bei Raumtemperatur mit dem aktivierte Träger inkubiert. Es werden 6,8 mg IgG gebunden.

Beispiel 4

35 1 g Polyamid-66-Pulver mit einer mittleren Teilchengröße von 20 µm wird mit 3 ml 2-Hydroxyäthyl-methacrylat, 0,24 ml N-Vinylpyrrolidon, 0,3 g Trichloressigsäure, 4 ml Furan und 3,5 ml Methanol versetzt und 4 Stdn. mit einer Strahlendosis von 0,04 Mrad/Stdn. bestrahlt. Nach Waschen und Trocknen gemäß Beispiel 1 ergibt sich eine Ppropfausbeute von 118 Gew.-%. Das Produkt wird analog Beispiel 1 mit Epichlorhydrin in 1 N NaOH aktiviert. Der Oxirangehalt beträgt 1030 µMol/g.

Beispiel 5

50 1 g Polyamid-6-Pulver, mittlere Teilchengröße 100 µm, wird mit 2,5 ml Hydroxyäthylmethacrylat, 0,35 ml N-Vinylpyrrolidon, 0,24 ml 20%ige wäßrige Acrylamid-Lösung und 5 ml 0,005 M Cu(II)sulfat-Lösung versetzt und eine Stunde mit 0,12 Mrad bestrahlt. Es resultiert eine Ppropfausbeute von 88 Gew.-%. 0,5 g des im Vakuum getrockneten Produktes wird mit 5 ml absolutem Aceton, das 2 g Tosylchlorid und 0,01 M Äthanolamin enthält, versetzt und 30 Min. bei 25°C gerührt. Das Reaktionsprodukt wird abgesaugt und so lange mit Aceton nachgewaschen, bis das Filtrat frei von Tosylchlorid ist. Danach wird mit Wasser und PBS-Puffer, pH 7,2, mehrfach nachgewaschen. Der aktivierte Träger wird mit 10 mg anti-Insulin IgG, gelöst in 3 ml 0,2 M HEPES-HCl-Puffer, pH 7,8, versetzt und 12 Stdn. bei 4°C gerührt. Danach wird abgesaugt und mehrfach mit HEPES-Puffer nachgewaschen. Eine Lösung von 3 mg Human-Insulin, gelöst in 3 ml PBS-Puffer, pH 7,2, wird für 5 Min. mit dem Affinitätsräger inkubiert. Es werden 0,8 mg Insulin gebunden.

DE 41 29 901 A1

9

Beispiel 6

0,25 g des mit Glycidyl-methacrylat gepropften Trägers, gemäß Beispiel 2, werden mit 1,5 ml Mercaptopropionsäure versetzt und unter Schütteln 10 Stdn. bei 35°C umgesetzt. Das Reaktionsprodukt wird abgesaugt und mehrfach mit Wasser bis zur absoluten Reinheit des Filtrates gewaschen. Das carboxylgruppenhaltige Produkt wird zunächst mehrfach mit Tetrahydrofuran gewaschen und anschließend mit 5 ml Tetrahydrofuran, in dem 322 mg Dicyclohexylcarbodiimid und 147 mg 1-Hydroxy-benzotriazol gelöst sind, versetzt und für 2 Stdn. bei 25°C aktiviert. Das Reaktionsprodukt wird abgesaugt und mehrfach bis zur Reinheit des Filtrates mit Tetrahydrofuran nachgewaschen. Nach 20stündiger Inkubation einer 3 ml PBS-Puffer-Lösung, pH 7,2, die 1.5×10^{-5} M J^{125} radioaktiv markiertes Rinder-Albumin enthält, werden 85% Protein gebunden.

Beispiel 7

0,5 g gemäß Beispiel 4 gepropfter und aktiverter Träger werden mit 3 ml 1 N K-Phosphat-Puffer, pH 7,5, in dem 5 mg Concanavalin A gelöst sind, versetzt und für 25 Stdn. bei Raumtemperatur geschüttelt. Der Träger bindet 3,2 mg Concanavalin A und kann direkt zur Auf trennung von Glycoproteinen nach den bekannten Verfahren eingesetzt werden.

Beispiel 8

0,5 g epoxy-aktiviertes Polyamid-Pulver, gemäß Beispiel 1, wird mit 3 ml 1 M K-Phosphat-Puffer, der 10 mg anti-Human-Serum-Albumin IgG enthält, versetzt und bei 20°C für 25 Stdn. geschüttelt. Es werden 3,1 mg IgG gebunden.

Beispiel 9

0,5 g Glycidyl-methacrylat gepropfter Träger, gemäß Beispiel 2, wird mit 0,5 g Adipinsäuredihydrazid, gelöst in 5 ml 0,2 M Bicarbonat-Puffer, pH 9,5, 20 Stdn. bei 40°C umgesetzt. Das Produkt wird anschließend abgesaugt und bis zur Reinheit des Filtrates mit Wasser nachgewaschen. Danach werden 2 ml 0,4 M Mercapto-äthanol-Lösung für 10 Stdn. bei 25°C inkubiert, um restliche Oxirngruppen zu blockieren. Es wird abgesaugt und mehrfach mit Wasser nachgewaschen. Es entsteht ein Hydrazid-Träger, an den aldehydgruppenhaltige Liganden nach den bekannten Methoden durch einfaches Inkubieren gebunden werden können.

Beispiel 10

1,5 g Polyamid 12, mittlere Teilchengröße 100 µm, wird mit 5 ml 2-Hydroxyäthyl-methacrylat, 1 ml N-Vinylpyrrolidon, 0,1 ml Trimethylolpropan-trimethacrylat, 7 ml 1,4 Dioxan und 5 ml Methanol versetzt und 2 Stunden mit einer Dosis von 0,08 Mrad/Stdn. bestrahlt. Es fällt eine Ppropfausbeute von 69 Gew.-% an.

Beispiel 11

10 g Polyamid 12, mittlere Teilchengröße 70 µm, wird mit 15 ml 2-Hydroxyäthyl-methacrylat, 6 ml 20%ige wäßrige Acrylamid-Lösung, 1 ml 1%ige wäßrige N,N'-Methylen-bisacrylamid-Lösung, 3 ml Dimethylsulfoxid, 10 ml Methanol und 10 ml Pyrrolidon versetzt

10

und 5 Stunden mit einer Gesamtdosis von 0,17 Mrad bestrahlt. Es resultiert eine Ppropfausbeute von 91 Gew.-%.

Beispiel 12

1 g amorphes Polyamid-6-Pulver, gemäß Beispiel 1, wird mit 3 ml Glycidyl-methacrylat, 0,5 ml N-Vinylpyrrolidon, 0,5 ml Trimethylolpropan-trimethacrylat, 0,5 ml Ameisensäure, 1 ml Formamid, 5,2 ml Methanol und 6,4 ml N-Methylacetamid, das zuvor kurz aufgeschmolzen wurde, versetzt und über einen Zeitraum von 3 Stdn. mit 0,05 Mrad/Stdn. bestrahlt. Es resultiert eine Ppropfausbeute von 94 Gew.-%.

Beispiel 13

6 g Polyamid-12-Pulver, mittlere Teilchengröße 70 µm, wird mit 10 ml 2-Hydroxyäthyl-methacrylat, 2 ml wäßrige 20%ige Acrylamid-Lösung, 0,2 ml Äthylenglykol-dimethacrylat, 1 ml Äthylformamid, 12 ml Methanol und 12,5 ml Tetrahydrofuran versetzt und 20 Stunden mit einer Strahlendosis von 0,009 Mrad/Stdn. bestrahlt. Nach den üblichen Wasch- und Trockenvorgängen resultiert eine Ppropfausbeute von 74 Gew.-%.

Beispiel 14

1 g amorphes Polyamid-Pulver, gemäß Beispiel 1, wird mit 3 ml Acrolein, 0,1 ml N-Vinylpyrrolidon, 4 ml Dimethylsulfoxid und 1 ml Dioxan versetzt und über einen Zeitraum von 20 Min. mit einer Strahlendosis von 0,26 Mrad/Stdn. bestrahlt. Es resultiert eine Ppropfausbeute von 18 Gew.-%.

Beispiel 15

1 g amorphes Polyamid-Pulver, gemäß Beispiel 1, wird mit 5 ml 0,05 M Cu(II)-sulfat-Lösung, die 20 Vol.-% Acrylsäure und 10 Vol.-% einer 20%igen wäßrigen Acrylamid-Lösung enthält, versetzt und 10 Stdn. mit einer Strahlendosis von 0,02 Mrad/Stdn. bestrahlt. Die Ppropfausbeute beträgt 16 Gew.-%.

Beispiel 16

1 g amorphes Polyamid-Pulver, gemäß Beispiel 1, wird mit 5 ml 0,05 M Cu(II)-sulfat-Lösung, die 20 Gew.-% Maleinsäureanhydrid und 20 Vol.-% Acrylsäure enthält, versetzt und 10 Stdn. mit einer Dosis von 0,02 Mrad/Stdn. bestrahlt. Die Ppropfausbeute beträgt 20 Gew.-%.

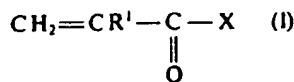
Beispiel 17

1 g Polyamid-6-Pulver, mittlere Teilchengröße 100 µm, wird mit 3 ml 2-Hydroxyäthyl-methacrylat, 1 ml 2-Isocyanatoäthyl-methacrylat, 0,2 ml N-Vinylpyrrolidon, 4,5 ml Methanol, 5,5 ml Chloroform und 2 ml Tetrahydrofuran versetzt und 3 Stunden mit einer Strahlendosis von 0,08 Mrad/Stdn. bestrahlt. Es resultiert eine Ppropfausbeute von 22 Gew.-%.

Patentansprüche

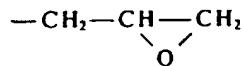
- Affinitätsträger auf der Basis von Polyamiden, auf die Polymere aufgepropft sind, dadurch gekennzeichnet, daß die gepropften Polymeren zu

70 bis 98% aus Vinylmonomeren mit funktionellen kupplungsfähigen Seitengruppen der allgemeinen Formel I



5

worin R^1 H oder CH_3 , X —OH, $-(\text{CH}_2)_2-6-\text{OH}$, $-\text{NHOH}$,



15

oder $-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{NCO}$ bedeuten kann, und zu 2 bis 30% aus Comonomeren mit nicht kupplungsfähigen Gruppen bestehen.

2. Affinitätsträger gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Comonomeren N-Vinylpyrrolidon, Acrylamid, Methacrylamid, Maleinsäure-anhydrid oder Allylharstoff oder Mischungen derselben sind.

3. Affinitätsträger auf der Basis von Polyamiden, dadurch gekennzeichnet, daß die Ppropfcopolymere gemäß Anspruch 1 zu 0,05 bis 5% mit Vinylmonomeren, die mindestens zwei reaktive Vinyl-Funktionen enthalten, vernetzt sind.

4. Affinitätsträger gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Vinylmonomere Acrolein ist.

5. Affinitätsträger gemäß Ansprüchen 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß das Ppropfcopolymer eine durch Reaktion eines oxirangruppentragenden Ppropfcopolymeren mit einem Diamin erzeugte Aminogruppe enthält.

6. Verfahren zur Herstellung von Affinitätsträgern, dadurch gekennzeichnet, daß kupplungsfähige seitengruppentragende Vinylmonomere der allgemeinen Formel (I), die in einem organischen Medium gelöst sind, in Gegenwart mindestens einer nicht kupplungsfähigen Seitengruppen tragenden Comonomeren-Komponente durch Bestrahlung mit Gamma- oder sonstigen ionisierenden Strahlen auf ein Polyamidsubstrat mit mikropartikulärer Flachmembran-, Hohlfaser- oder Tube-Geometrie aufgepropft werden.

7. Verfahren zur Herstellung von Affinitätsträgern gemäß Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Ppropfung in einer Lösung, die 0,05 bis 5 Vol.-% eines Di- oder Triacrylates oder eines Di- oder Trimethacrylates enthält, durchgeführt wird.

8. Verfahren zur Herstellung von Affinitätsträgern, dadurch gekennzeichnet, daß mikropartikuläres, amorphes Polyamid, erhältlich durch Aufschmelzen des Polyamids in einer inerten, das Polyamid nicht lösenden, hochsiedenden Flüssigkeit und anschließendes Abkühlen in einem Kältebad, gemäß Ansprüchen 6 und 7 gepropft wird.

9. Verfahren zur Herstellung eines Affinitätsträgers gemäß Ansprüchen 6 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß das Polyamid zuerst mit Gamma-Strahlen vorbestrahl wird und anschließend mit der Ppropflösung in Kontakt gebracht wird.

10. Verfahren zur Herstellung von Affinitätsträgern gemäß Ansprüchen 6 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß die Ppropflösung 15 bis 40 Vol.-% Vinylmonomere enthält.

11. Verfahren zur Herstellung von Affinitätsträgern gemäß Ansprüchen 6 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Ppropfung in einer organischen Phase, die zu 55 bis 80 Vol.-% aus einer binären, ternären oder quaternären Mischung solcher organischen Lösungsmittel besteht, deren Löslichkeitsparameter zwischen 9 und 15 ($\text{cal}/\text{cm}^{-3}\right)^{1/2}$ liegt, durchgeführt wird, wobei eine Komponente zwischen 4 und 38 Vol.-% ausmacht, durchgeführt wird.

12. Verfahren zur Herstellung von Affinitätsträgern gemäß Ansprüchen 6 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß die Ppropflösung 0,35 bis 8 Vol.-% Comonomere in Form von N-Vinylpyrrolidon oder wäßrigen Acrylamid-, Methacrylamid-, Allylharstoff- oder Maleinsäure-anhydrid-Lösungen oder Mischungen derselben enthält.

13. Verfahren zur Herstellung von Affinitätsträgern gemäß Ansprüchen 6 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß die Ppropfung in einer Lösung, die 2 bis 12 Gew.-% Trichloressigsäure enthält, durchgeführt wird.

14. Verfahren zur Herstellung von Affinitätsträgern auf der Basis von Polyamiden, dadurch gekennzeichnet, daß die Ppropfung wasserlöslicher Monomere gemäß Formel (I) in einer Mischung, die 55 bis 80 Vol.-% einer wäßrigen 0,001- bis 0,2molaren Metallsalzlösung enthält, in Gegenwart von 1 bis 12 Vol.-% mindestens einer Comonomeren-Komponente gemäß Anspruch 12 durchgeführt wird.

15. Verfahren zur Herstellung von Affinitätsträgern gemäß Ansprüchen 6 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß die Ppropfung in einer Lösung, die 1 bis 12 Vol.-% eines Lösungsmittels mit einem Wasserstoff-Bindungs-Parameter > 9 ($\text{cal}/\text{cm}^{-3}\right)^{1/2}$ enthält, durchgeführt wird.

16. Verfahren zur Herstellung von Affinitätsträgern mit Aminoseitengruppen, dadurch gekennzeichnet, daß die oxirangruppenhaltigen Ppropfcopolymeren nach Ansprüchen 1 bis 13 und 15 mit einem Diamin aus wäßriger Phase umgesetzt wird.

17. Verfahren zur Herstellung von Affinitätsträgern nach Ansprüchen 1 bis 13 und 15, dadurch gekennzeichnet, daß die oxirangruppenhaltigen Ppropfcopolymeren mit Polyethylenglykolen einer Molmasse von 100 bis 3000 umgesetzt werden.

18. Verfahren zur Herstellung aldehydgruppenhaltiger Affinitätsträger, dadurch gekennzeichnet, daß die oxirangruppenhaltigen Ppropfcopolymeren nach Ansprüchen 1 bis 13 und 15 mit Mineralsäuren hydrolysiert werden, und die entstandenen vicinalen Hydroxyl-Gruppen mit Perjodaten zu Aldehydfunktionen oxidiert werden.

19. Verwendung der Affinitätsträger gemäß Ansprüchen 1 bis 5 zur Fraktionierung von Biopolymeren.

- Leerseite -